

BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND



AUSGEGEBEN AM
11. APRIL 1957

DEUTSCHES PATENTAMT

PATENTSCHRIFT

Nr. 961 654

KLASSE 30h GRUPPE 236

INTERNAT. KLASSE A 61k

M 23427 IVa/30h

Dr. med. Richard Maatz, Kiel, und Armin Bauermeister, Kiel
sind als Erfinder genannt worden

Dr. med. Richard Maatz, Kiel, und Armin Bauermeister, Kiel

Verfahren zur Präparierung von zur Verpfanzung geeigneten Knochen

Patentiert im Gebiet der Bundesrepublik Deutschland vom 16. Juni 1954 an

Patentanmeldung bekanntgemacht am 11. Oktober 1956

Patentreteilung bekanntgemacht am 28. März 1957

Es ist bekannt, aus Knochen Leim oder Gelatine zu gewinnen, aber schon bei diesem Verfahren wird von der Verwendung von scharfen Bleichmitteln, darunter auch Wasserstoffsuperoxyd abgeraten. Bei einem bekannten Verfahren dieser Art wird das Knochengut zerstört. Es ist ferner bekannt, Trypsin als Zusatz zu Einweichmitteln zu verwenden. Alle diese Verfahren liegen wegen des anderen Zweckes und auch wegen der grundsätzlich anderen Wirkung abseits der vorliegenden Erfindung, deren Zweck es ist, ein Verfahren für die Behandlung von Knochen zu schaffen, so daß diese

Knochen mit Erfolg bei Lebewesen, insbesondere Menschen, verpflanzt werden können. Dazu ist die Einhaltung verschiedener biologisch wichtiger Faktoren wesentlich, die bei einer reinen Bleichung von Knochen keine Rolle spielen und bisher auch nicht berücksichtigt wurden. Es kommt darauf an, die Behandlung der Knochen so vorzunehmen, daß die Wachstumsmöglichkeiten nicht zerstört werden und rein biologisch die angewendeten Mittel keine schädigenden Einflüsse nach dieser Richtung zurücklassen. Das wäre beispielsweise der Fall, wenn aus Natriumverbindungen oder sonstigen Alkaliverbin- 15 20

dungen Rückstände verbleiben, welche giftig wirken. Nach dem Verfahren der Anmeldung werden einerseits die für die Verpfanzung wichtigen biologischen Eigenschaften des Knochens erhalten, 5 andererseits wird die Sterilität gesichert.

- Es ist weiter bereits bekannt, Knochenpräparate von einem Lebewesen auf das andere zu überpflanzen, z. B. werden Knochen von Leichen oder von lebenden Spendern nach begrenzter Aufbewahrungszeit operativ zur Verpfanzung verwendet. 10 Das gebräuchlichste Verfahren ist dabei die Aufbewahrung in Tiefkühltruhen. Eine andere Methode ist die Aufbewahrung des Knochens in Blutflüssigkeit oder in einer chemischen Lösung (z. B. in einer 15 Quecksilberverbindung). Endlich gibt es noch verschiedene Verfahren, Knochen (außen und innen, auch in den kleinen Innenhöhlen) von allen Weichgeweben zu befreien, die Mazeration. Die bisher auf diesem Gebiet geübten Verfahren verändern entweder die biologischen oder die mechanischen 20 Eigenschaften des Knochens so stark, daß der mazerierte Knochen zur Verpfanzung weniger geeignet war. Für die Zweckmäßigkeit der Auswahl der Knochen steht zur Zeit als empfindlichste Methode der »Spongiosatest« (Maatz) zur Verfügung 25 [Journ. Bone and Joint Surgery, 36A, S. 721 bis 731 (1954)].

Nach der Erfindung wird diese Aufgabe gelöst durch ein Verfahren zur Präparierung von zur Verpfanzung geeigneten Knochen unter Entfernung der Weichgewebe derselben innen und außen, der Fettsubstanzen und des Blutfarbstoffes, indem die Knochen mit Eiweißentfernungsmittern, z. B. mindestens 10%iger Wasserstoffsperoxydlösung oder 30 Trypsinlösung behandelt werden, wobei Temperaturen eingehalten werden, die eine Änderung der biologischen Materialeigenschaften durch die Temperatur ausschließen. Nach der Erfindung werden Knochen von sehr jungen Individuen behandelt, 35 insbesondere Knochen von Kälbern. Nach dem Verfahren der Erfindung werden beliebige Stoffe, Behälter oder Werkzeuge, die diesem Verfahren dienen, bei niedriger Temperatur von mindestens 34°C mit fettlösenden, niedrigsiedenden Mitteln 40 nachbehandelt. Ferner wird das Verfahren unter Fernhaltung von Einflüssen schädigender Metalle und/oder ihrer Verbindung z. B. in Glas- oder Porzellanbehältern durchgeführt. Man erhält auf diese Weise tierische oder menschliche Knochen, 45 von Weichgeweben befreit ohne die für die Verpfanzung wichtigen biologischen oder mechanischen Eigenschaften der Knochen nachteilig zu beeinflussen. Das Verfahren verbessert sogar die für eine Verpfanzung günstigen biologischen Eigenschaften des Knochens.

Dabei ist der so präparierte Knochen praktisch unbegrenzt lange haltbar und kann, fabrikmäßig hergestellt und in Glasampullen eingeschmolzen, in den Handel gebracht werden. 50 Für das Verfahren ist zunächst das Ausgangsmaterial wichtig. Es kommt insbesondere die Verwendung menschlichen oder tierischen Knochens jugendlicher Individuen in Frage, weil sich heraus-

gestellt hat, daß deren chemische und mechanische Struktur gegenüber Knochen älterer Individuen in 65 der Regel besonders geeignet ist.

Die Mazeration besteht in einer Enteiweißung, die zum Teil sogar die Knochenhartsubstanz erfaßt, einer Entfettung und einer Entgiftung und endlich in einer Sterilisation, wobei während der einzelnen Arbeitsgänge eine Temperatur innegehalten wird, bei der die Gefahr der Hitzedenaturierung sicher vermieden wird. 70

Die Enteiweißung wird durch Wasserstoffsuperoxyd bewirkt, dieses hat bei der Mazeration nach 75 dem vorliegenden Verfahren folgende Vorteile: Es hinterläßt keine toxischen Abbauprodukte, sondern läßt sich nach beendetem Vorgang als Wasser und Sauerstoff ohne Rückstände ausspülen, bewirkt im gleichen Arbeitsgang eine Sterilisation und ein Bleichen der Präparate, wobei mechanische Eigenschaften und biologische Qualität zumindest erhalten werden und ein restloses Entfernen der gelösten Weichteile erreicht wird. 80

Die nochmalige Sterilisation und Entfettung 85 beruht darauf, daß die Präparate (oder Gegenstände—Apparatur) mit fettlösenden Mitteln behandelt werden, die lipoide Stoffe pathogener Keime aus deren Struktur herauslösen. Die für die Verpfanzung wichtige biologisch günstige Struktur des 90 Präparates bleibt unbeeinträchtigt, anhaftende Schmutzteilchen sowie toxisch wirksame Substanzen werden herausgelöst oder abgespült, die Fettsubstanzen radikal entfernt, das Präparat wird sterilisiert und die Lösungsmittelteilchen werden 95 durch Verdampfen rückstandsfrei entfernt.

Alle Arbeitsgänge werden vorzugsweise in Glas- oder Porzellangefäßen vorgenommen, damit die Knochen in keiner Weise mit schädigenden, aus dem Metall oder dessen Verbindungen stammenden 100 Stoffen verunreinigt werden können.

Die Erfindung wird beispielsweise wie folgt verwirklicht:

Ausgangsmaterial. Knochen vom Kalb (Alter bis 105 zu 3 Monaten); im Ausnahmefall für besonders beanspruchte Teile Ochsenknochen.

Arbeitsgang 1. 2 bis 3 Tage fließend wässern bei Zimmertemperatur (etwa 18°C) (Blutfarbstoffauswaschung). Die gleichmäßige Durchspülung der Präparate wird gewährleistet durch Lagerung auf 110 einem z. B. von unten durchspülten Rost, der die Knochen enthält, wobei die leichteren Teile im Lösungsmittel nach oben steigen, die schwereren durch den Rost absinken.

Arbeitsgang 2. Enteiweißung gemäß Abs. 5, Behandlung mit über 10%iger H_2O_2 -Lösung in stehender Flüssigkeit, nach je 24 Stunden Erneuerung, zwei bis dreimal, also 2 bis 3 Tage Dauer, wobei ständig (Thermostat) etwa 37°C für die Lösung eingehalten werden. Statt H_2O_2 kann auch 120 für die Entfernung des Eiweißes Trypsin (1% kristallines Trypsin in Ringerlösung, die durch Zusatz von Na_2CO_3 alkalisiert ist auf einen pH von 8,5) Verwendung finden. Durch die Behandlung in konzentrierterem H_2O_2 wird bereits eine Sterilisation 125 durchgeführt (wobei die Knochen an dem

Aufsteigen aus der Flüssigkeit gehindert werden), so daß im Rahmen der Gesamtbehandlung das Sterilisationsverfahren nach Arbeitsgang 5 vorgesehen ist, um die Keime abzutöten, die noch während der Arbeitsgänge 3 und 4 die Präparate eventuell infiziert haben könnten.

Arbeitsgang 3. 10 bis 12 Stunden fließend kalt wässern zur Auswaschung und Abführung der gelösten Weichteile.

Arbeitsgang 4. Offenes Trocknen bei höchstens 40° C (12 bis 24 Stunden unter Schutz gegen grobe Verunreinigung).

Arbeitsgang 5. Entfettung und Sterilisation in reinem Äther. Die Knochenteile liegen auf einem metallfreien Rost, der verdampfte Äther durchdringt den Knochen, wird oben an einer Kühlslange niedergeschlagen und tropft immer wieder als praktisch vollkommen reiner Äther auf den Knochen herab, die Fett- und Schmutzteile abspülend und mitnehmend. Temperatur zweckmäßig unter 50° C. Dauer bis 24 Stunden. Man kann eventuell zur Abtötung besonders widerstandsfähiger Krankheitserreger, und zwar unter Druck, über 50° C erhöhen.

Danach sterile Entnahme und sterile Aufbewahrung bis zur operativen Verwendung, gegebenenfalls Einschmelzen in Glasampullen.

Als Apparatur eignet sich für Arbeitsgang 5 ein Wasserbad 1, welches auf 60° C gehalten wird; in dasselbe taucht das den Äther enthaltende Porzellan- oder Glasgefäß 2 ein, welches über dem Ätherspiegel einen Glasrost 3 zur Aufnahme des zu entfettenden und zu sterilisierenden Materials enthält. Der Abschlußdeckel der Extraktionskammer trägt eine Kühlslange 4 mit Kühlwasser 5 und -abfluß 6, einen Einfülltrichter 7 mit Hahn für das Einfüllen des Äthers, einen Stopfen 8 für ein Thermometer 9 und eine Abflußleitung 10, durch welche am Schluß der Destillation der Äther in einen Kondensator 11 abgeführt wird, nachdem die Kühlung an der Kühlslange 4 durch Absperrung des Kühlwassers außer Tätigkeit gesetzt ist.

Nach Beendigung des Arbeitsganges 5 werden die Knochen steril aus der Extraktionskammer ent-

nommen und können steril in Glasampullen eingeschmolzen werden.

Bei dem beschriebenen Verfahren ist die Sterilisation bei mindestens 34° C mit fettlösenden, niedrigsiedenden Mitteln, wie Äther, Alkohol, Leichtbenzin usw. in dem Mittel selbst oder deren Dämpfen allgemein für alle Stoffe und Behälter sowie Geräte und Instrumente, die diesem Verfahren dienen, soweit sie durch das Mittel nicht angegriffen werden, anwendbar, insbesondere für Messer, Scheren bzw. Schneideflächen aufweisende Instrumente, deren Schneideflächen bei höheren Temperaturen leiden.

50

55

60

65

70

75

80

85

90

PATENTANSPRÜCHE:

1. Verfahren zur Präparierung von zur Verpflanzung geeigneten Knochen unter Entfernung der Weichgewebe derselben innen und außen, der Fettsubstanzen und des Blutfarbstoffes, dadurch gekennzeichnet, daß die Knochen mit Eiweißentfernungsmittern, wie z. B. mindestens 10%iger H_2O_2 -Lösung oder Trypsinlösung behandelt werden.

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß Knochen von sehr jungen Individuen behandelt werden.

3. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß insbesondere Knochen von Kälbern behandelt werden.

4. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß beliebige Stoffe oder Behälter oder Werkzeuge, die diesem Verfahren dienen, bei niedriger Temperatur von mindestens 34° C mit fettlösenden, niedrigsiedenden Mitteln nachbehandelt werden.

5. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das Verfahren unter Fernhaltung von Einflüssen schädigender Metalle und/oder ihrer Verbindungen, z. B. in Glas- oder Porzellanbehältern, durchgeführt wird.

In Betracht gezogene Druckschriften:
Deutsche Patentschriften Nr. 172 169, 167 299,
267 630.

90

Hierzu 1 Blatt Zeichnungen

